

隠岐・宍道湖・中海周辺の生物多様性調査 —ミドリアメーバに関する共生の研究—

生物科学科 准教授

児玉 有紀

目 的

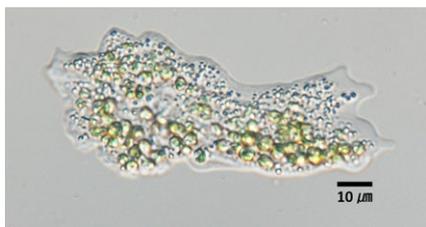
原生生物と藻類との細胞内共生の例は多数報告されている。ゾウリムシは細胞内に共生藻をもつことで、高塩濃度などの各種ストレスに耐性を示したり、被食率が低下することが明らかになっている。本研究は隠岐・中海・宍道湖周辺で原生生物の採集を行うことで、細胞内共生藻による宿主の生息域の拡大の可能性や、捕食者からの防御などの捕食-被食関係に与える影響を調べることを目的として行った。

研究成果

ミドリアメーバを用いた細胞生物学的研究

淡水の原生生物には、細胞内に緑藻類を共生させている種が多数存在している。なかでも、繊毛虫のミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*) とクロレラは、相利共生の関係であるにもかかわらずクロレラの除去実験や再共生実験が可能であることから、50年以上前から細胞内共生の成立・維持機構解明のためのモデル材料とされてきた。我々はミドリゾウリムシを用いて、クロレラの詳細な再共生過程や、共生前後の宿主細胞の遺伝子発現の変化を明らかにしてきた。しかし、他の原生生物を用いた細胞内共生の研究は非常に少なく、原生生物一般における細胞内共生の生態・進化学的理解には程遠いのが現状である。宍道湖と中海では共生藻をもつ原生生物が採集できなかつたので、島根大学構内（島根大学ミュージアム裏の水桶の中）で採集された共生藻をもつミドリアメーバ (*Mayorella* sp.) を用いて、ミドリゾウリムシ研究での手法・知見を応用することで、ミドリアメーバと細胞内共生藻に関する新たな知見を得ることを目的とした。

① ミドリアメーバについて



島根大学構内で採集されたミドリアメーバ

10細胞中の共生藻をカウントし、1細胞あたりの平均共生藻数と標準偏差を出した。その結果、マヨレラ1細胞あたりの平均共生藻数は219.8細胞であった。標準偏差が ± 84.97 細胞とばらつきがあったことから、マヨレラの保持する共生藻の数は個体差がかなり大きい事が分かった。

40細胞の最大体長を計測した所、平均は131.6 μm となった。

また標準偏差の値は ± 29.6 μm であり、個体差があることが分かった。マヨレラの形態の特徴としては不定形で丸い形から細長い形まで様々な形をとるが、移動時には細長い形態となり、形態を維持したまま移動するものが多く見られた。また移動時には仮足とアメーバ運動が観察された。移動時に伸びる仮足からは長く鋭い仮足を出さず、乳頭状もしくはピラミッド状であると判断した為、本種は *M. augusta*, *M. godesae*, *M. leidyi*, *M. hohuensis* の内のいずれかであることが示唆された。

② ミドリアメーバのファロイジン染色

ミドリゾウリムシやラップムシ、太陽虫などの原生生物の共生藻は、宿主の細胞表層直下に定着して

いることが報告されているが、宿主のどの部分にどのように接着しているのかは明らかになっていない。ミドリアメーバの細胞内で共生藻が保持される仕組みを調べるため、ファロイジンを用いて宿主のアクチンを染色した。その結果、細胞質全体に蛍光が観察され、ファロイジンによってマヨレラのF-アクチン染色が可能であることが分かったが、今回の実験の目的であるアクチンと共生藻の位置関係についてはクロレラの周辺部分が局所的に蛍光を発するなどの現象は見られなかったため、アクチンと共生藻との局在性は明らかにできなかった。

③共生藻の間接蛍光抗体法

ミドリゾウリムシの共生クロレラの細胞壁に対するモノクローナル抗体を用いて間接蛍光抗体法を行ったところ、ミドリアメーバの共生藻とは反応しなかった。このことは、ミドリゾウリムシ共生クロレラとミドリアメーバ共生藻の細胞壁の構成成分に違いがあることを示唆している。

④ミドリアメーバの共生藻を用いた共生実験

ミドリアメーバの共生藻がミドリゾウリムシへの共生能を持つかを調べるため、マヨレラホモジネートとクロレラを除去したミドリゾウリムシを1時間混合し、1日後に観察を行った。その結果、細胞内に共生藻を持つミドリゾウリムシが確認された。150細胞を観察した結果、120細胞に共生藻の保持が確認され、80%という共生率を示した。また、ミドリアメーバの共生藻はミドリゾウリムシが分裂する度に娘細胞に分配されたことから、ミドリアメーバ共生藻とミドリゾウリムシとの細胞分裂が同調していることが分かった。

社会への貢献

細胞内共生は真核細胞の進化と多様性をうみだす原動力である。隠岐・中海・宍道湖周辺での細胞内に共生藻をもつ原生生物の採集は無い。本研究では隠岐・中海・宍道湖周辺における原生生物の分布のみならず、細胞内共生が生態系に与える影響も明らかにできることが期待される。

次年度に向けた検討状況

来年度も引き続き、隠岐・中海・宍道湖周辺や島根大学構内での採集を継続する。また、ミドリアメーバを用いた実験をさらに進める。今後は、ミドリアメーバからの共生藻の除去実験や再共生実験を行い、ミドリアメーバに藻類が取り込まれてから共生が成立するまでの過程を明らかにしていきたい。

公表論文

無し

学会発表等

「島根大学構内で採集されたミドリアメーバ (*Mayorella* sp.) の特徴について」 荒木 創太郎, 舞木 昭彦, 児玉 有紀. 島根大学生物資源科学部ミッション報告会 2015年3月14日 (予定)

受賞等・外部資金

無し